

# Rezidue i onečišćenja u ljekovitom biljnom materijalu i ljekovitim pripravcima

---

Duh, Danijela

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:665502>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-02**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu  
Agronomski fakultet

University of Zagreb  
Faculty of Agriculture



# **REZIDUE I ONEČIŠĆENJA U LJEKOVITOM BILJNOM MATERIJALU I LJEKOVITIM PRIPRAVCIMA**

DIPLOMSKI RAD

Danijela Duh

Zagreb, rujan, 2019.



Sveučilište u Zagrebu  
Agronomski fakultet

University of Zagreb  
Faculty of Agriculture



Diplomski studij:

Biljne znanosti

# **REZIDUE I ONEČIŠĆENJA U LJEKOVITOM BILJNOM MATERIJALU I LJEKOVITIM PRIPRAVCIMA**

DIPLOMSKI RAD

Danijela Duh

Mentor:

doc. dr. sc. Martina Grdiša

Zagreb, rujan, 2019.



Sveučilište u Zagrebu  
Agronomski fakultet

University of Zagreb  
Faculty of Agriculture



## **IZJAVA STUDENTA O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Danijela Duh**, JMBAG 0119019145, rođena 08. lipnja 1993. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

### **REZIDUE I ONEČIŠĆENJA U LJEKOVITOM BILJNOM MATERIJALU I LJEKOVITIM PRIPRAVCIMA**

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
*Potpis studentice*



Sveučilište u Zagrebu  
Agronomski fakultet

University of Zagreb  
Faculty of Agriculture



## IZVJEŠĆE O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice **Danijela Duh**, JMBAG 0119019145, naslova

### **REZIDUE I ONEČIŠĆENJA U LJEKOVITOM BILJNOM MATERIJALU I LJEKOVITIM PRIPRAVCIMA**

obranjen je i ocijenjen ocjenom \_\_\_\_\_, dana \_\_\_\_\_.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. doc. dr. sc. Martina Grdiša, mentor

\_\_\_\_\_

2. doc. dr. sc. Sanja Radman, član

\_\_\_\_\_

3. izv. prof. dr. sc. Klaudija Carović-Stanko, član

\_\_\_\_\_

## **Zahvala**

Posebno se zahvaljujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Martini Grdiša na pruženoj prilici, pristupačnosti, iznimnoj pomoći i strpljenju te prenesenom znanju prilikom izrade i pisanja ovog diplomskog rada.

Također se zahvaljujem svojoj majci Zlatici Duh, sestri Željki Duh, partneru Romanu Beriniću i prijateljici Ani Hemen koji su mi pružili neizmjernu pomoć i potporu tijekom cijelog mog studiranja.

## Sadržaj

1. Uvod.....	1
1.1. Cilj istraživanja .....	2
2. Zakonska regulativa .....	3
3. Rezidue i onečišćenja.....	5
3.1. Biološka onečišćenja.....	5
3.2. Kemijska onečišćenja.....	10
3.2.1. Mikotoksini .....	10
3.2.2. Pesticidi.....	14
3.2.3. Toksični elementi.....	17
4. Strategije poboljšanja kvalitete ljekovitog biljnog materijala .....	22
5. Zaključak.....	24
6. Popis literature i izvora .....	25
Životopis .....	29

## **Sažetak**

Diplomskog rada studentice **Danijela Duh**, naslova

### **REZIDUE I ONEČIŠĆENJA U LJEKOVITOM BILJNOM MATERIJALU I LJEKOVITIM PRIPRAVCIMA**

Ljekovito bilje i pripravci od ljekovitog bilja u posljednjih dvadesetak godina nalaze sve veću primjenu u liječenju ljudi i to ponajviše zbog dostupnosti, relativno niske cijene te pretpostavke da njihova primjena neće imati negativnih posljedica na zdravlje. Općeprihvaćeno mišljenje javnosti je da je ono neškodljivo s obzirom da se radi o prirodnim tvarima. Međutim, kakvoća ljekovitog bilja može biti narušena zbog sadržaja različitih onečišćenja kao što su ostaci pesticida, teških metala, fumiganata, mikotoksina, bakterija, itd., koji se mogu akumulirati tijekom uzgoja, skladištenja i prerade biljaka te djelovati negativno na ljudsko zdravlje. Brojna istraživanja dokazala su prisustvo navedenih onečišćenja te autori aludiraju na nedostatak kontrole kvalitete ljekovitog biljnog materijala i ljekovitih pripravaka.

Ključne riječi: ljekoviti biljni materijal, onečišćenja, mikotoksini, teški metali



## **Summary**

Of the master's thesis – student **Danijela Duh**, entitled

### **RESIDUES AND CONTAMINANTS IN MEDICINAL PLANTS AND HERBAL PRODUCTS**

Medicinal plants and herbal products over the last twenty years have become increasingly popular in human health care, mainly because of their availability, relatively low prices and the assumption that their use will not have a negative impact on human health. The general public opinion is that these products are harmless as they are natural substance. However, the quality of medicinal plants can be disrupted due to the content of different pollutants such as pesticide residues, heavy metals, fumigates, mycotoxins, bacteria, etc., which can accumulate during cultivation, storage and processing of plants and negatively affect human health. Numerous studies have proven the presence of these contaminants, and the authors allude to the lack of quality control of medicinal plant material and medicinal preparations.

Key words: medicinal herbs, contaminants, mycotoxins, heavy metals

# 1. Uvod

Ljekovito bilje ima dugu povijest korištenja u liječenju različitih bolesti. U medicinske svrhe koristi od kad je čovječanstva, a znanje o upotrebi bilja prenosilo se iz generacije u generaciju. U davnim vremenima ljekovito bilje je za liječenje određenih bolesti i tegoba birano prema morfološkim značajkama (boja ili oblik lišća, cvjetova i sl.) koje su podsjećale na pojedine ljudske organe ili simptome bolesti, pa su se tako primjerice biljke sa srcolikim oblikom listova koristile za liječenje srčanih oboljenja i sl. Ovaj primitivan pristup korištenja ljekovitog bilja naziva se Teorija signatura (*Doctrines of Signature*) (Peter i Nirmal Babu, 2012).

S razvojem znanosti i tehnologije omogućeno je utvrđivanje kemijskog sastava različitih biljnih vrsta, a time i njihovih ljekovitih svojstava što je rezultiralo sve većom primjenom ljekovitog bilja u prehrambenoj, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji. Osim u ovim granama industrije, ljekovito bilje ima veliki značaj u tradicionalnoj medicini. Prema definiciji Svjetske zdravstvene organizacije (*World Health Organization – WHO*, 2005) tradicionalna medicina je zbir znanja, vještina i prakse temeljenih na teorijama, uvjerenjima i iskustvima koja su autohtona za različite kulture, bila ona objašnjiva ili ne, a primjenjuje se u održavanju zdravlja, kao i u prevenciji, dijagnozi, poboljšanju ili liječenju tjelesnih i duševnih bolesti. Liječenje ljekovitim biljem, odnosno fitoterapija, integrirana je u svim sustavima tradicionalne medicine, često kao glavni izvor zdravstvene njege u nerazvijenim zemljama i zemljama u razvoju. U razvijenim zemljama također raste potražnja za biljnim proizvodima zbog raširene pretpostavke da prirodno znači bezopasno. Prednost prirodnih lijekova u odnosu na sintetske jest široka dostupnost putem maloprodaje, kao što su trgovine i internet trgovine. Međutim, rastom popularnosti i globalne raširenosti, sigurnost biljnih pripravaka postaje jedan od problema javnog zdravstva. Kako navode Kosalec i sur. (2009) problem stvara nedostatak sustava kontrole i slobodni kanali distribucije koji mogu rezultirati lošom kvalitetom biljnog materijala i biljnih pripravaka. Navode da su najčešći uzroci nekvalitetnih biljnih pripravaka patvorenje s neprijavljenim jakim sintetskim tvarima, kriva identifikacija ili zamjena navodno ljekovitih biljnih vrsta s otrovnim biljnim vrstama, neispravno doziranje, interakcije s konvencionalnim lijekovima, kao i upotreba pripravaka koji su onečišćeni s potencijalno opasnim tvarima, kao što su mikrobn metaboliti (pr. mikotoksini), radioaktivne čestice, teški metali i agrokemikalije (pr. pesticidi).

Neka onečišćenja, kao što su radionuklidi i metali, prirodno se nalaze u tlu i atmosferi, dok su neka uzrokovana sve većim razvojem industrije, emisijom plinova, korištenjem raznih kemijskih tvari u poljoprivredi, kao što su npr. pesticidi. Zbog sve veće primjene kemijskih tvari i njihovog odlaganja, onečišćenja se mogu pronaći i u ljekovitom bilju uzgajanom u organskoj proizvodnji. Osim toga, ljekovito bilje i biljni pripravci mogu biti kontaminirani tijekom procesa proizvodnje, prerade i skladištenja.

## **1.1. Cilj istraživanja**

Cilj ovog rada je prikupiti, proučiti i sistematizirati dostupnu znanstvenu i stručnu literaturu na temu mogućih rezidua i onečišćenja u ljekovitom bilju i biljnim pripravcima. Također, cilj je proučiti dostupnu zakonsku regulativu vezanu uz kontrolu uzgoja i proizvodnje ljekovitog bilja, kao i kontrolu kvalitete biljnih pripravaka.

## 2. Zakonska regulativa

Zakoni vezani uz kontrolu kvalitete ljekovitog biljnog materijala kao i njihovih pripravaka specifični su za pojedine države, ako su uopće uvedeni. Hrvatska farmakopeja jest propis koji utvrđuje zahtjeve izrade, kakvoće i postupke za provjeru kakvoće lijekova i medicinskih proizvoda, koji je odgovarajuće povezan i usklađen s Europskom farmakopejom, unutar koje su također postavljeni standardi kojima se jamči kvaliteta lijekova. Propisi unutar Europske farmakopeje pacijentima i drugim korisnicima osiguravaju sigurnu uporabu lijekova te se olakšava slobodan transport medicinskih proizvoda unutar Europe kao što se osigurava i kvaliteta medicinskih proizvoda koji se izvoze iz Europe.

U Hrvatskoj postoje zakoni koji određuju kako i u kojim mjerama je dozvoljeno sakupljati ljekovito bilje te zakone vezane uz ekološku proizvodnju ljekovitog i začinskog bilja, kao i Zakon o lijekovima i Pravilnik o stavljanju u promet te označavanju i oglašavanju tradicionalnih biljnih lijekova. Pravilnik o sakupljanju zavičajnih divljih vrsta (NN/2017) propisuje zavičajne vrste za skupljanje, odnosno uzimanje iz prirode u svrhu prerade i/ili daljnje prerade, kojima pripadaju i brojne ljekovite biljne vrste. Postoje brojni zakoni i propisi koji se odnose na ekološku poljoprivrednu proizvodnju koji se također mogu odnositi na ljekovito bilje s obzirom da se ono uglavnom nastoji uzgajati prema pravilima ekološke proizvodnje. Unutar Pravilnika o ekološkoj poljoprivrednoj proizvodnji (NN 19/2016) nalaze se propisi vezani uz ekološku proizvodnju bilja te sankcije u slučaju ne pridržavanja propisa navedenih ovim pravilnikom. Uredba Komisije (EZ) (889/2008) o detaljnim pravilima za provedbu Uredbe Vijeća (EZ) br. 834/2007 o ekološkoj proizvodnji i označavanju ekoloških proizvoda s obzirom na ekološku proizvodnju, označavanje i kontrolu između ostaloga propisuje pravila o proizvodnji, preradi, pakiranju, prijevozu i skladištenju proizvoda. Za proizvodnju bilja propisuje se pravilno gospodarenje tлом i gnojidba, zabrana hidroponskog uzgoja te gospodarenje štetočinjama, bolešću i korovom. Isto tako, propisuje se i pravilno prikupljanje proizvoda i prijevoz u jedinice za pripremu te pakiranje kao i određena pravila vezana uz kontrole za biljke i biljne proizvode. Propisane su i najviše koncentracije u mg/kg suhe tvari u kompostiranom ili fermentiranom kućnom otpadu za kadmij (0,7), bakar (70), olovo (45), živa (0,4) i dr. Također su navedeni i dopušteni pesticidi za zaštitu bilja. Uredba (EU) 2018/848 Europskog parlamenta i Vijeća o ekološkoj proizvodnji i označavanju ekoloških proizvoda te stavljanju izvan snage Uredbe Vijeća (EZ) br. 834/2007 također propisuje ciljeve i načela ekološke proizvodnje, kontrolu štetnih organizama i korova, pravila za sakupljanje samoniklog bilja, te pakiranje, prijevoz i skladištenje bilja. Ova uredba primjenjuje se od 1. siječnja 2021.

Unutar Zakona o lijekovima (NN 76/2013) se prije svega nalaze definicije pojmova kao što su biljni lijek, tradicionalni biljni lijek, biljne tvari, biljni pripravci i sl., te su propisani postupci registracije i stavljanje u promet tradicionalnih biljnih lijekova. Pravilnikom o stavljanju u promet te o označavanju i oglašavanju tradicionalnih biljnih lijekova (NN 89/2010) utvrđuje se postupak, oblik i sadržaj dokumentacije za davanje odobrenja za stavljanje tradicionalnih biljnih lijekova u promet, potrebni dokazi o medicinskoj uporabi u razdoblju od 30 godina te pravila označavanja i oglašavanja tradicionalnih biljnih lijekova. Unutar ovog pravilnika utvrđeni su određeni zahtjevi za tradicionalne lijekove, no nisu navedene granice za onečišćenja.

Mnoge države svijeta nisu uvele nikakve zakone unutar vlastitog državnog zakonodavstva koji bi propisivali kvalitetu ljekovitog biljnog materijala i njihovih pripravaka koji se proizvode, kao ni onih koji se uvoze. Svjetska zdravstvena organizacija (WHO, 2003) donijela je smjernice za dobru poljoprivrednu i sakupljačku praksu ljekovitog bilja koja bi poslužila državama kao predložak za uvođenje vlastitih nacionalnih smjernica i uvođenje zakona. Do sada su smjernice razvile samo Europska unija i pojedine države kao što su Kina i Japan. Ove se smjernice odnose upravo na kontrole kvalitete ljekovitog biljnog materijala što uključuje kontrole na prisustvo mikroorganizama, pesticida, mikotoksina, teških metala i dr., kao i ostale kontrole vezane uz sam uzgoj, proizvodnju, sušenje, čuvanje i skladištenje. Oni su isto tako izdali i smjernice koje se odnose na kvalitetu ljekovitog bilja s naglaskom na onečišćenja i rezidue (WHO, 2007). U ovom dokumentu navode podjelu onečišćenja i rezidua te metode i tehnike njihove detekcije. Također navode i maksimalne dopuštene vrijednosti određenih onečišćenja, kao što je maksimalna dopuštena vrijednost za arsen i ostale toksične elemente u biljnim lijekovima i proizvodima. Ove maksimalne vrijednosti prema preporukama WHO-a za arsen iznose 1 mg/kg, olovo 10 mg/kg i kadmij 0,3 mg/kg. Isto tako, propisane su i maksimalne dopuštene granice za mikrobna onečišćenja u ljekovitom biljnom materijalu, pripravcima i proizvodima. Tako primjerice maksimalna dopuštena količina plijesni i kvasaca u ljekovitom biljnom materijalu za unutarnju upotrebu iznosi  $10^3$  spora po gramu. Prema podacima iz ovog dokumenta, Europska farmakopeja je odredila maksimalne granice rezidua za najviše pesticida (diazinon 0,5 mg/kg, DDT 1,0 mg/kg, profenofos 0,1 mg/kg i dr.). Patel i sur. (2011) proučavali su dokumente koje je izdala WHO te navode maksimalne granice za prisustvo mikrobni onečišćenja u svježem biljnom materijalu kao i prerađenom. Maksimalne granice u biljnom materijalu koji je prethodno bio tretiran (pr. vodom za spravljanje čajeva) za aerobne bakterije iznosi  $10^7$  spora/g, kvasce i plijesni  $10^4$  spora/g te *Escherichia coli*  $10^2$  spora/g. Za ostali biljni materijal koji se koristi za unutarnju upotrebu granice iznose za aerobne bakterije  $10^5$  spora/g, kvasce i plijesni  $10^3$  spora/g, *E. coli* 10 spora/g.

WHO je 2001. godine provela anketu o zakonskoj regulativi vezanoj uz ljekoviti biljni materijal u zemljama članicama (WHO, 2005). Od tadašnjih 191 zemalja članica, njih 141 odazvalo se na sudjelovanje u anketi. Dobiveni rezultati pokazali da u više od 50% država koje su sudjelovale u anketiranju ne postoje važeći zakoni vezani uz kontrolu kvalitete i trgovine ljekovitim biljem. Situacija je obrnuta kod zakona vezanih uz biljne lijekove, gdje više od 60 % država vrši kontrolu kvalitete. Hrvatska je članica Svjetske zdravstvene organizacije, no ona nije sudjelovala u navedenom anketiranju. Informacije koje su javno dostupne ukazuju na nedostatak zakonskih regulativa vezanih uz kontrolu kvalitete ljekovitog biljnog materijala i njihovih pripravaka, kako u svijetu, tako i u Hrvatskoj. Njihov nedostatak bitno utječe na sigurnost korištenja ovih proizvoda.

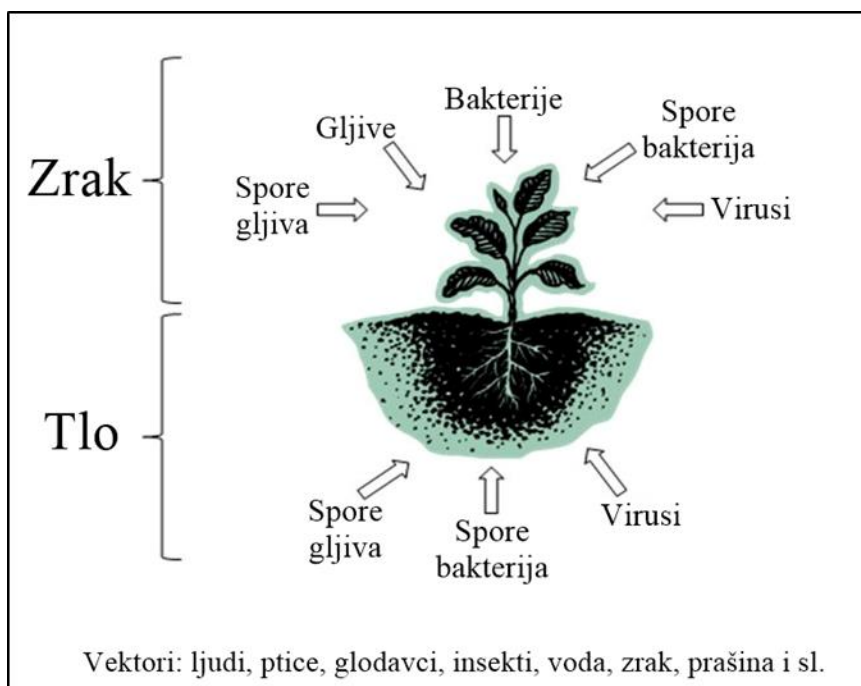
### **3. Rezidue i onečišćenja**

Upotreba ljekovitog bilja i biljnih pripravaka u svijetu postaje sve popularnija, kako u razvijenim zemljama, tako i u zemljama u razvoju. Pretpostavka da sve što je prirodno znači i bezopasno ubrzano se proširila diljem svijeta pa tako potražnja za prirodnim proizvodima postaje sve veća. U zemljama u razvoju ljekovito bilje je lakše dostupno i znatno niže cijene u odnosu na sintetske lijekove, dok u razvijenim zemljama raste trend vođenja zdravog života i korištenja prirodnih proizvoda. S obzirom da se potražnja za ljekovitim biljem i pripravcima proširila i u razvijenim zemljama, razvijena je i sve veća proizvodnja, pa su zemlje u razvoju kao što su Kina, Indija i zemlje jugoistočne Azije postale najveći dobavljači ljekovitog bilja u svijetu (Tripathy i sur., 2015). Ubrzanim širenjem trenda 'prirodno je zdravo' vrši se pritisak na sve veću i ubranu proizvodnju koja u brojnim slučajevima nije kontrolirana, čime raste i opasnost od onečišćenja uzgajanih vrsta, biljnog materijala koji se prerađuje, kao i samih gotovih proizvoda.

Onečišćenja u ljekovitom biljnom materijalu i ljekovitim pripravcima mogu znatno utjecati na njihovu kvalitetu, ali i sigurnost korištenja, te mogu štetno utjecati na ljudsko zdravlje. Do onečišćenja može doći prilikom uzgoja, obrade, ali i uslijed neprimjerenog skladištenja. Najveći utjecaj na smanjenje kvalitete imaju ostaci pesticida, teških metala, prisutnost mikroorganizama i slično (Tripathy i sur., 2015). Onečišćenja u ljekovitom bilju i biljnim pripravcima dijele se na biološka onečišćenja (bakterije i njihove spore, plijesni, kvasci, virusi, kukci i sl.), kemijska onečišćenja (rezidue agrokemikalija kao što su pesticidi i gnojiva, fumiganti, mikotoksini i sl.), toksične metale i nemetale (olovo, kadmij, živa, bakar, arsen, nitrati i nitriti), kao i patvorine i nedeklarirane kemijske tvari (Kosalec i sur., 2009). Biljni materijal i biljni proizvodi kontaminirani navedenim onečišćenjima kod ljudi mogu utjecati na ometanje rada muških i ženskih hormona i time uzrokovati poremećaje endokrinog sustava, utjecati na neplodnost, te mogu imati imunosupresivno, kancerogeno i teratogeno djelovanje (Tripathy i sur., 2015). Prema tome, vrlo je važno da ljekovito bilje ne sadrži navedena onečišćenja ili da njihova količina bude unutar dozvoljenih granica koja neće nepovoljno utjecati na ljudsko zdravlje.

#### **3.1. Biološka onečišćenja**

Prema Kosalecu i sur. (2009) biološko onečišćenje se odnosi na prisutnost živih mikroorganizama kao što su bakterije i njihove spore, plijesni i kvasci, virusi, protozoe, te ličinke i jajašca različitih kukaca. Od mikroorganizama, ljekovito bilje i ljekovite pripravke najviše onečišćuju bakterije i gljive. Bitno je naglasiti da se mikotoksini, koji su produkti metabolizma ovih mikroorganizama, ne ubrajaju u biološka onečišćenja, već u kemijska. Na biljne dijelove mikroorganizmi mogu dospjeti putem tla, vode i zraka (Freitas Araújo i Baubab, 2012). Na slici 3.1.1. prikazani su mogući putevi onečišćenja ljekovitog bilja mikroorganizmima.



Slika 3.1.1. Utjecaj čimbenika okoliša i mogući putevi mikrobiološke kontaminacije ljekovitog bilja  
Izvor: de Freitas Araújo i Baubab (2012)

Do mikrobiološke kontaminacije dolazi u različitim fazama proizvodnje, skladištenja i prerade ljekovitog bilja. Prašina koja još u polju naliježe na razne dijelove biljaka može sadržavati znatne količine spora bakterija i gljiva (Martins i sur., 2001). Nadalje, neispravni poslijezetveni postupci u kombinaciji s visokom vlagom zraka povoljno utječu na pojavu gljivičnih infekcija kod svježeg biljnog materijala, što nepovoljno utječe na njihov kemijski sastav, a samim time i na ljekovita svojstva (Singh i sur., 2008). Jedan od najvećih uzroka pojave mikroorganizama na ljekovitom biljnom materijalu, kao i njihovim pripravcima je nepravilno i nekontrolirano skladištenje. Ukoliko se tijekom dugotrajnog skladištenja ne kontrolira temperatura i vlaga zraka postoji potencijalna opasnost za razvoj mikroorganizama, ali i za pojavu mikotoksina, u slučaju da se na biljnom materijalu nalaze gljive koje stvaraju toksične sekundarne metabolite (Martins i sur., 2001).

Brojna istraživanja dokazala su da nedostatak kontrole prilikom proizvodnje i posebice skladištenja ljekovitog biljnog materijala, kao i nedostatak zakonskih regulativa uvelike utječu na sigurnost korištenja ljekovitog bilja kao i njihovih pripravaka. Prisutnost velikog broja različitih sojeva gljiva smanjuje kvalitetu proizvoda, ubrzava procese kvarenja te stvara opasnost od pojave toksičnih sekundarnih metabolita koje proizvode neki od ovih mikroorganizama. Također, valja napomenuti kako su brojna istraživanja koja su dokazala kontaminaciju ljekovitog bilja različitim mikroorganizmima, provedena u Indiji i Kini, zemljama koje su najveći proizvođači i izvoznici ovih proizvoda u svijetu.

Patogene vrste bakterija predstavljaju rizik od izazivanja zaraznih bolesti ili drugih neželjenih učinaka kod osoba koje uzimaju ljekovite biljne pripravke. U ovom slučaju onečišćenje predstavljaju spore koje proizvode određene gram-pozitivne bakterije kao što su npr. one iz roda *Bacillus* i *Clostridium*. Nastaju kada su bakterije izložene nepovoljnim uvjetima okoline, odnosno toplini, suši, nedostatku hranjivih tvari i slično. Općenito se veći

broj spora nalazi na osušenom biljnom materijalu, nego na svježem, posebice kada se koriste neprimjereni postupci sušenja. Veliki problem stvaraju spore bakterija koje su vrlo otporne na različita okruženja, kao što su visoke temperature, UV zračenje, smrzavanje i slično (European Medicines Agency, 2015). Martins i sur. (2001) istraživali su prisustvo mikroorganizama kod različitih vrsta ljekovitog bilja te su utvrdili prisustvo potencijalno patogenih bakterija *Bacillus cereus* i *Clostridium perfringens*, koje uzrokuju trovanje hranom. Prema njihovom istraživanju, čak 96,8% ispitanih uzoraka bilo je kontaminirano bakterijom *B. cereus*, od kojih je čak 60,0% sadržavalo više od  $10^3$  spora po gramu. Bakterija *C. perfringens* pronađena je kod 83,9% uzoraka, ali je kod samo 19,2% uzoraka utvrđena količina veća od  $10^3$  spora po gramu. Rezultati istraživanja prikazana su u tablicama 3.1.1. i 3.1.2.

Tablica 3.1.1. Učestalost i količine spora bakterije *B. cereus* kod ljekovitog bilja (cfu/g)

Uzorci	N <sub>1</sub> /N <sub>2</sub>	<10 <sup>3</sup>	<10 <sup>5</sup>	>10 <sup>5</sup>
<b>Kamilica</b>	13/13	11	2	0
<b>Listovi naranče</b>	9/9	5	2	2
<b>Listovi lipe</b>	13/13	12	1	0
<b>Kukuruzna svila</b>	15/15	0	0	15 <sup>b</sup>
<b>Morske alge</b>	8/8	5	3	0
<b>Barska metvica</b>	2/2	2	0	0
<b>Ljekovita kadulja</b>	0/2	0	0	0
<b>Ukupno</b>	60/62 (96,8%)	26 (43,3%)	19 (31,7%)	17 (28,3%)
<b>N<sub>1</sub>/N<sub>2</sub>: broj uzoraka koji sadrži spore bakterije <i>B. cereus</i>/ukupan broj ispitanih uzoraka</b> <b><sup>b</sup>: više od 10<sup>8</sup> spora/g kod dva uzorka</b> <b>cfu: broj jedinica koje tvore kolonije</b>				

Izvor: Martins i sur. (2001)



Tablica 3.1.2. Učestalost i količine spora bakterije *C. perfringens* kod ljekovitog bilja (cfu/g)

Uzorci	N <sub>1</sub> /N <sub>2</sub>	<10 <sup>3</sup>	<10 <sup>5</sup>	>10 <sup>5</sup>
<b>Kamilica</b>	8/13	1	6	1
<b>Listovi naranče</b>	5/9	1	2	2
<b>Listovi lipe</b>	12/13	2	8	2
<b>Kukuruzna svila</b>	15/15	1	9	5
<b>Morske alge</b>	8/8	3	5	0
<b>Barska metvica</b>	2/2	0	2	0
<b>Ljekovita kadulja</b>	2/2	0	2	0
<b>Ukupno</b>	52/62 (83,9%)	8 (15,4%)	34 (65,4%)	10 (19,2%)
<b>N<sub>1</sub>/N<sub>2</sub>: broj uzoraka koji sadrži spore bakterije <i>C. perfringens</i>/ukupan broj ispitanih uzoraka</b>				
<b>cfu: broj jedinica koje tvore kolonije</b>				

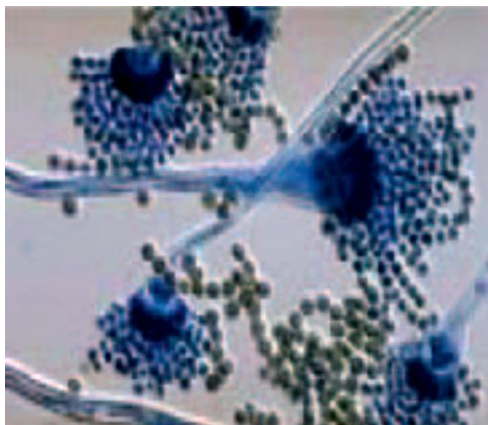
Izvor: Martins i sur. (2001)

Izvor biološkog onečišćenja ljekovitog bilja predstavlja i gram-pozitivna bakterija *Clostridium botulinum* koja tijekom rasta i razmnožavanja proizvodi neurotoksine. Konzumacija hrane koja sadrži *C. botulinum* dovodi do trovanja koje se naziva botulizam. Utvrđeno je osam tipova neurotoksina kod navedene bakterije (tipovi A-G), a botulizam kod ljudi najčešće uzrokuju tipovi A, B, E i rijetko F (Harris, 2016). Spore ove bakterije široko su rasprostranjene u tlu, stoga se smatra da je upravo tlo njihov glavni izvor. Spore su pronađene u brojnim prehrambenim proizvodima kao što su med, kukuruzni sirup, ali sve češće i u različitim ljekovitim biljnim vrstama (Bianco i sur. 2008). Bianco i sur. (2008) navode da najveću opasnost ova bakterija predstavlja za dojenčad starosti od jednog do 52 tjedna. U dječjem crijevnom traktu još nije razvijena zaštitna bakterijska flora i žučne kiseline koje inhibiraju *Clostridium*, što omogućuje ovoj bakteriji razvoj i proizvodnju toksina koji uzrokuje bolest (Cagan i sur., 2010). Bianco i sur. (2008) su ispitali prisutnost navedene bakterije na uzorcima kamilice. Prema njihovom istraživanju, od 200 uzoraka kamilice, kod njih 15 pronađene su bakterije (7,5%). Kao uzrok zaraženosti kamilice navode njezinu visinu, odnosno činjenicu da je kamilica biljna vrsta relativno niskog rasta (oko 50 cm), zbog čega su biljni dijelovi bliže tlu pa tako lakše mogu biti zaraženi bakterijom. Navode da količine utvrđene u 1 g kamilice nisu dovoljne da bi naštetile ljudskom zdravlju, no do trovanja može doći upravo zbog toga što se najčešće čaj priprema od nekoliko grama kamilice, pije se nekoliko puta na dan i kroz nekoliko dana (primjerice kod prehlade). Autori upozoravaju da se u mnogim zemljama dojenčadi daje upravo čaj od kamilice kao domaći lijek, što može predstavljati opasnost za pojavu dojenačkog botulizma ukoliko je kamilica zaražena bakterijama *C. botulinum*.

Drugu skupinu mikroorganizama koji mogu kontaminirati ljekovito bilje i njihove proizvode čine gljive, odnosno plijesni i kvasci. Prisutnost gljiva nije poželjna kod biljnog materijala koji se koristi u ljekovite svrhe, međutim, ne predstavlja toliku opasnost za ljudsko zdravlje kao njihovi sekundarni metaboliti, odnosno mikotoksini. S obzirom da sekundarni

metaboliti gljiva pripadaju kemijskim onečišćenjima, u ovom dijelu pozornost se pridaje samom broju i vrstama gljiva koje mogu biti onečišćivači ljekovitog biljnog materijala, a mikotoksini će biti obrađeni u dijelu rada koji opisuje kemijska onečišćenja. Brojna istraživanja došla su do zaključka da je uzrok pojave ovih mikroorganizama upravo nedostatak mjera opreza prilikom obrade i skladištenja biljnog materijala u nehigijenskim uvjetima (Siakrwar i sur. 2014). Prema Run-shengu i sur. (2017), suhi biljni dijelovi podložniji su zarazi gljivama tijekom prijezetvenih i poslijezetvenih postupaka te njihova prisutnost može uzrokovati pojavu pljesnivog mirisa i okusa kod ljekovitog bilja i njihovih pripravaka. Aziz i sur. (1998) navode da se gljive dijele u dvije ekološke kategorije, odnosno na poljske i skladišne gljive. Poljske gljive napadaju zrelo sjeme ili sjeme u razvoju dok je još na biljci. U ovu skupinu najčešće spadaju rodovi gljiva *Alternaria*, *Helminthosporium*, *Fusarium* i *Cladosporium*. Skladišne gljive se pojavljuju na biljnim dijelovima prilikom povećane vlage do koje najčešće dolazi prilikom neprimjerenog skladištenja. Ovoj skupini gljiva najčešće pripadaju one iz rodova *Aspergillus* i *Penicillium*. Smatra se da su navedena dva roda najučestaliji uzročnici biološkog onečišćenja biljnog materijala. Također, mnoge vrste iz rodova *Aspergillus* i *Penicillium* su proizvođači mikotoksina što može predstavljati veliku prijetnju ljudskom zdravlju. Istraživanje Run-shenga i sur. (2017) upravo potvrđuje ovu pretpostavku. U njihovom istraživanju provedenom na 15 ljekovitih vrsta kao što su *Fritillaria cirrhosa* D. Don, *Magnolia officinalis* Rehder & E. H. Wilson, *Lonicera japonica* Thunb. i dr., gljive iz rodova *Aspergillus* i *Penicillium* utvrđene su u najvećem broju. Kod roda *Aspergillus*, najdominantnija vrsta bila je *A. versicolor*, nakon koje su slijedile *A. fumigatus*, *A. aculeatus* i *A. flavus*. Isto tako, zabrinjavajuća je činjenica da je od ispitanih 45 uzoraka njih čak 95.6% bilo kontaminirano gljivama.

Aziz i sur. (1998) ispitivali su 84 uzoraka ljekovitog bilja i začina (*Nigella sativa* L. – pitoma crnjika, *Foeniculum vulgare* Mill. – komorač, *Zingiber officinale* Roscoe – đumbir i dr.) te izolirali čak devet rodova gljiva (*Absidia*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Mucor* i *Scopulariopsis*). Najbrojnije vrste pripadale su rodu *Aspergillus*, nakon čega su slijedile vrste iz roda *Penicillium* i *Fusarium*. Prevladavajuće vrste gljiva koje su pronađene kod ljekovitog bilja i začina bile su *A. flavus*, *A. parasiticus* i *A. niger*. Na slici 3.1.2. prikazana je mikroskopska slika plijesni *A. flavus*.



Slika 3.1.2. Mikroskopska slika plijesni *Aspergillus flavus*  
Izvor: Šarkanj i sur. (2010)

Martins i sur. (2001) su ispitivali 62 uzorka sedam vrsta ljekovitog bilja (*Matricaria chamomilla* L. – kamilica, *Citrus sinensis* O. – slatka naranča, *Tilia grandifolia* L. – velelisna lipa, *Salvia officinalis* L. – ljekovita kadulja i dr.) i utvrdili 93.5% uzoraka kontaminiranih gljivama. Kod 82.4% uzoraka pronađene su gljive iz roda *Fusarium* koji je ujedno i najučestaliji rod pronađen kod ispitanih uzoraka. Sljedeća najučestalija vrsta bila je *A. flavus* koja je pronađena kod 24.6% uzoraka, te vrste iz roda *Penicillium*. Singh i sur. (2007) na temelju provedenog istraživanja također utvrđuju da je rod *Aspergillus* bio najčešći na ispitanoj ljekovitoj bilji, odnosno vrste *A. flavus*, *A. niger* i *A. terreus*.

U istraživanju Siakrwaru i sur. (2014) od ukupno 15 uzoraka triju ljekovitih biljnih vrsta (*Saraca indica* L., *Terminalia arjuna* Roxb ex DC., *Hemidesmus indicus* (L.) R. BR. ex Schult.) njih čak 14 (93%) bilo je kontaminirano jednom ili više vrsta gljiva. Svi analizirani uzorci *S. indica* i *T. arjuna* bili su kontaminirani s barem jednom vrstom gljiva. Najučestalije gljive bile su *A. niger* (19.44% zaraženih uzoraka), zatim *Penicillium janthinellum* (16.66%), *A. flavus* (8.33%), *A. brassicae* (8.33%), *A. pullulans* (8.33%) i vrste iz roda *Drechslera* (8.33%). Na temelju dobivenih rezultata autori zaključuju da postoji veliki rizik za sintezu mikotoksina, posebice usred dugotrajnog skladištenja u lošim uvjetima, odnosno bez kontrole temperature i vlage zraka. Bugno i sur. (2006) su proveli istraživanje na 91 uzorku ljekovitog bilja koje se popularno koristi u Sao Paulu i koje je nabavljeno kod četiri različita dobavljača. U njihovom istraživanju čak 54.9% uzoraka bilo je kontaminirano gljivama u količinama većim od dopuštenih prema farmakopeji Sjedinjenih Američkih Država. Gljive roda *Aspergillus* i *Penicillium* pronađene su kod najvećeg broja uzoraka, i to rod *Aspergillus* kod 90.1% uzoraka, a rod *Penicillium* kod 39.6% analiziranih uzoraka. Oni također navode da su najviše kontaminirani biljni dijelovi listovi i stabljika (50%), zatim cvjetovi (16%), podanci i korijeni (12%), kora (12%) i sjeme (10%).

## 3.2. Kemijska onečišćenja

Prema Kosalecu i sur. (2009) kemijska onečišćenja u ljekovitom biljnom materijalu predstavljaju sekundarni metaboliti mikroorganizama (mikotoksini) te rezidue pesticida, gnojiva i fumiganata. Od svih kemijskih onečišćivača, najveći broj istraživanja usmjeren je na pojavu mikotoksina i njihovu potencijalnu opasnost za ljudsko zdravlje.

### 3.2.1. Mikotoksini

Mikotoksini (grč. *mykes* – gljiva, *toxicon* – otrov) su toksični sekundarni metaboliti koje proizvode patogene plijesni, te predstavljaju opasnost za ljudsko zdravlje. Često je njihova akutna toksičnost povezana uz maligne bolesti (karcinogenost, mutagenost, imunotoksičnost, hepatotoksičnost, nefrotoksičnost, fenotoksičnost, dermatotoksičnost, hematotoksičnost, teratogenost) (Šarkanj i sur. 2010). Plijesni koje proizvode mikotoksine nastanjuju i rastu na biljnim dijelovima u polju ili kontaminiraju biljni materijal prilikom žetve, obrade, transporta i skladištenja (Hyun-Deok i sur. 2018). S obzirom na pojavnost i toksičnost, najvažniji mikotoksini su: aflatoksini B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> i G<sub>2</sub> (AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub>, AFG<sub>2</sub>), okratoksin A (OTA), citrinin (CTN), zearalenon (ZEN), fumonizini B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> i B<sub>3</sub> (FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub>, FB<sub>3</sub>), deoksinivalenol (DON) i drugi trihoteceni, patulin (PAT) i ergot alkaloidi (EA)

(Pleadin i sur. 2017). Od navedenih, u ljekovitim biljnih pripravcima najučestaliji su aflatoksini (AF), okratoksin A (OTA), fumonizini (FB), zearaleon (ZEN) i deoksinivalenol (DON) (Rocha-Miranda i Venâcio, 2018). Na ljudsko zdravlje najviše utječu aflatoksini i okratoksin A. Aflatoksine najčešće sintetiziraju gljive *A. flavus* i *A. parasiticus*, dok okratoksin A sintetiziraju gljive iz rodova *Aspergillus* i *Penicillium* (Ahmad i sur. 2014). Aflatoksini B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> i G<sub>2</sub> su visoko toksični i kancerogeni (Hyun-Deok i sur. 2018). U tablici 3.2.1.1. prikazani su odabrani mikotoksini i plijesni koje su odgovorne za njihovu sintezu.

Tablica 3.2.1.1. Odabrani mikotoksini i plijesni koje su odgovorne za njihovu sintezu

Mikotoksin	Plijesan
<b>Aflatoksin B<sub>1</sub></b>	<i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>
<b>Zearalenon</b>	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. nivale</i> , <i>F. tricinctum</i> , <i>F. sporotrichoides</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. verticillioides</i>
<b>Okratoksin A</b>	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>A. ostianus</i> , <i>A. melleus</i> , <i>A. alliaceus</i> , <i>A. petrakii</i> , <i>A. sclerotiorum</i> , <i>A. sulphureus</i> , <i>Penicillium viridicatum</i> , <i>P. cyclopium</i> , <i>P. commune</i> , <i>P. palitans</i> , <i>P. purpurescens</i> , <i>P. variable</i> , <i>P. verrucosum</i> , <i>P. chrysogenum</i>
<b>Citrinin</b>	<i>Penicillium citrinum</i> , <i>P. viridicatum</i> , <i>P. implicatum</i> , <i>P. fellatanum</i> , <i>P. citreo-viride</i> , <i>P. velutinum</i> , <i>P. canascens</i> , <i>P. purpurescens</i> , <i>P. janseni</i> , <i>P. steckii</i> , <i>P. spinolosum</i> , <i>P. notatum</i> , <i>P. palitans</i> , <i>P. expansum</i> , <i>P. claviforme</i> , <i>P. roqueforti</i> , <i>Aspergillus niveus</i> , <i>A. terreus</i> , <i>A. flavipes</i>
<b>Penicilinska kiselina</b>	<i>Penicillium puberulum</i> , <i>P. piscarium</i> , <i>P. stoloniferum</i> , <i>P. viridicatum</i> , <i>P. cyclopium</i> , <i>P. martensii</i> , <i>P. thomii</i> , <i>P. verrucosum</i> , <i>P. suaveolens</i> , <i>P. chrysogenum</i> , <i>P. palitans</i> , <i>P. baarnense</i> , <i>P. expansum</i> , <i>P. madriti</i> , <i>P. paraherquei</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>A. querinus</i> , <i>A. melleus</i> , <i>A. ostianus</i>

Izvor: Šakanj i sur. (2010)

Prema Herpekanu (2006) u prosjeku jedna vrsta gljive sintetizira dvije vrste mikotoksina što znači da potencijalno postoji oko 20 000 do 30 000 jedinstvenih mikotoksina. Opasnost od obolijevanja zbog prisutnosti mikotoksina ovisi prije svega o zemlji i regiji, te o prehrambenim navikama određene zajednice. Primjerice, prisustvo fumonizina u kukuruzu ne predstavlja veliku opasnost u Australiji jer se ondje kukuruz ne pojavljuje često u prehrani, za razliku od SAD-a, gdje se kukuruz puno više koristi u tamošnjoj prehrani stanovništva, te fumonizini zbog toga predstavljaju opasnost. Isto tako, aflatoksini ne predstavljaju prijetnju u Europi jer se ne pojavljuju u velikim koncentracijama zbog nepovoljnih temperatura za njihovu sintezu. Veću opasnost aflatoksini predstavljaju u SAD-u i Aziji. Za Europu problem mogu predstavljati proizvodi koji se uvoze pri čemu možda ne postoji sustavna kontrola. Kod uvoza hrane postoje brojna ograničenja i kontrole, no za ljekovito bilje i njihove pripravke ne vrijedi isto pravilo.

Problem kod mikotoksina je taj što je njih, za razliku od samih gljiva, puno teže ukloniti prilikom obrade toplinom, zbog termostabilnosti (Hyun-Deok i sur. 2018). Upravo se zbog toga provodi sve više istraživanja o kontaminaciji gljivama koje mogu sintetizirati ove

toksične sekundarne metabolite. Kada se govori o ljekovitom biljnom materijalu, kao i njihovim pripravcima, zapravo ne postoje općenita ograničenja i kontrole vezane uz sadržaj mikotoksina koje su općeprihvaćene u cijelom svijetu. Sustav kontrole biljnog materijala i proizvoda razlikuju se za svaku pojedinu državu, ako uopće i postoji. Metode detekcije prisutnosti mikotoksina razvijene su od mnogih organizacija, kao što je Međunarodno udruženje službenih analitičkih kemičara (*Association of Official Analytical Chemists; AOAC*), Međunarodna unija za čistu i primijenjenu kemiju (*International Union of Pure and Applied Chemistry; IUPAC*) i Europsko povjerenstvo za standardizaciju (*European Committee for Standardization; CEN*), no službena metoda za utvrđivanje prisutnosti mikotoksina u ljekovitom bilju ne postoji (Heperkan, 2006). Hyun-Deok i sur. (2018) koristili su metodu tekućinske kromatografije i masene spektrometrije (LC-MS/MS) kako bi utvrdili prisustvo određenih mikotoksina kod više biljnih vrsta. Utvrđivali su prisutnost 11 mikotoksina (AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub>, AFG<sub>2</sub>, OTA, ZEN, DON, FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub>, FB<sub>3</sub> i T-2 toksin) kod 20 različitih ljekovitih biljnih vrsta i to u tri različita biljna dijela (korijen, podanok i sjeme). Kod najvećeg broja uzoraka pronađen je ZEN (10%), nakon čega slijedi DON (6%) te FB<sub>3</sub> (5%). U tablici 3.2.1.2. prikazana je stopa detekcije pojedinih mikotoksina te njihova minimalna, maksimalna i prosječna koncentracija kod ispitanih uzoraka.

Tablica 3.2.1.2. Stopa detekcije i koncentracije mikotoksina kod ispitanih uzoraka

Mikotoksin	Stopa detekcije <sup>a</sup> (%)	Koncentracija (ng/g)		
		Minimum	Maksimum	Prosjek
AFB <sub>1</sub>	1/100 (1%)	5,00	5,00	5,00
AFB <sub>2</sub>	0/100 (0%)	-	-	-
AFG <sub>1</sub>	0/100 (0%)	-	-	-
AFG <sub>2</sub>	0/100 (0%)	-	-	-
OTA	4/100 (4%)	1,40	58,26	25,34
ZEN	10/100 (10%)	2,88	15,21	7,44
DON	6/100 (6%)	2,07	128,89	28,89
FB <sub>1</sub>	2/100 (2%)	0,79	33,68	17,24
FB <sub>2</sub>	2/100 (2%)	0,90	1,60	1,25
FB <sub>3</sub>	5/100 (5%)	0,74	205,41	47,19
T2	2/100 (2%)	0,87	14,20	7,54

<sup>a</sup> Broj uzoraka kod kojih je pronađen mikotoksin/ukupan broj uzoraka

Izvor: Hyun-Deok i sur. (2018)

Roy i sur. (1988) su istraživali prisustvo aflatoksina kod najčešće korištenih ljekovitih biljnih vrsta u Indiji (*Coriandrum sativum* L. korijandar, *Glycyrrhiza glabra* L. – sladić, *Piper nigrum* L. – papar i dr.). Uzorci su prikupljeni u nekoliko skladišta u Bihar. Od 15 uzoraka, kod čak njih 14 utvrđeno je prisustvo aflatoksina. Izolirano je 13 različitih vrsta gljiva, od kojih su najučestalije *A. flavus*, *A. candidus*, *A. niger*, *A. luchuensis*, *A. ochraceus*, *A. nidulans*, *Fusarium moniliforme* i *Penicillium citrinum*. Od navedenih vrsta, kod najvećeg broja uzoraka utvrđena je vrsta *A. flavus* (46%). Od 158 izolata *A. flavus*, za njih 49 je utvrđeno da su toksični i da se količine sintetiziranog aflatoksina kreću od 0,86 do 5,24 µg/ml u filtratu kulture.

Hyun-Deok i sur. (2018) navode da je prema Kineskoj farmakopeji u ljekovitom bilju dopušteno maksimalno 5 µg/kg AFB<sub>1</sub>. S obzirom da navedeni podatak, zabrinjavajući su rezultati istraživanja Roya i sur. (1988) u kojem je kod biljne vrste *Acacia catechu* (L.f.) Willd. utvrđeno čak 0,9 µg/g, odnosno 90 µg/kg AFB<sub>1</sub>, što je čak najmanje utvrđena količina od svih ispitivanih vrsta. Najveća količina AFB<sub>1</sub> od 1200 µg/kg pronađena je kod crnog papra (*Piper nigrum* L.). Aziz i sur. (1998) su istraživanjem na 84 uzoraka suhog biljnog materijala ljekovitog bilja (*Nigella sativa* L. – crni kim, *Foeniculum vulgare* Mill. – komorač, *Zingiber officinale* Roscoe – đumbir i dr.) uvezenog iz Indije i nabavljeno kod različitih trgovaca, a koje se koristi u Egiptu, utvrdili AFB<sub>1</sub> kod 17 uzoraka (10 – 160 µg/kg), OTA kod tri uzorka (20 – 80 µg/kg) dok kod niti jednog uzorka nije pronađena penicilinska kiselina, ZEN, kao ni T-2. U tablici 3.2.1.3. prikazana je proizvodnja aflatoksina na ljekovitom bilju i začinima.

Tablica 3.2.1.3. Proizvodnja aflatoksina na ispitivanom ljekovitom bilju i začinima

Tip gljiva	Ukupan broj ispitanih gljiva	Sojevi pozitivni na proizvodnju aflatoksina	Tip proizvedenog aflatoksina				
			B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>1</sub> i B <sub>2</sub>	B <sub>1</sub> i G <sub>1</sub>	B <sub>1</sub> i G <sub>2</sub>
<i>Aspergillus flavus</i>	49	22 (44,9%)	10	3	4	2	3
<i>Aspergillus parasiticus</i>	37	14 (37,85%)	5	1	6	1	1
<i>Aspergillus oryzae</i>	15	2 (13,33%)	2	-	-	-	-
<i>Aspergillus tamarri</i>	8	0 (0%)	-	-	-	-	-
<b>Ukupno</b>	109	38 (34,86%)	17 (15,6%)	4 (3,67%)	10 (9,17%)	3 (2,75%)	4 (3,67%)

Izvor: Aziz i sur. (1998)

Halt (1998) je analizirao 62 uzorka ljekovitog biljnog materijala i 11 uzoraka biljnog čaja. Utvrdio je sljedeće rodove gljiva: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Absidia*, *Alternaria*, *Cladosporium* i *Trichoderma*. Vrsta *A. flavus* pronađena je kod 11 (18%) uzoraka ljekovitog bilja i kod 1 (9%) uzorka biljnog čaja. Ostale gljive pronađene su samo u tragovima i razlog tome autori navode povoljne uvjete skladištenja ljekovitog biljnog

materijala prije prerade u biljne čajeve. S obzirom da su odgovarajući skladišni uvjeti za biljni materijal nepovoljni uvjeti za sintezu mikotoksina, uočena je uglavnom pojava gljiva bez pojave mikotoksina.

Bugno i sur. (2006) su analizirali 91 uzorak dobiven od 65 različitih ljekovitih biljnih vrsta koje su komercijalno dostupne u prodaji u Brazilu te one koje imaju veliku popularnost korištenja, kao što su *Althaea officinalis* L. (bijeli sljez), *Angelica archangelica* L. (anđelika), *Pimpinella anisum* L. (anis), *Arctium lappa* L. (čičak), *Matricaria chamomilla* L. (kamilica), *Sambucus nigra* L. (crna bazga), *Foeniculum vulgare* Mill. (komorač), *Ginkgo biloba* L. (ginko), *Equisetum arvense* L. (poljska preslica) i druge. Osim utvrđivanja gljivične kontaminacije, analizirali su i potencijalnu toksičnost rodova *Aspergillus* i *Penicillium*, izoliranih iz uzoraka. Vrste *A. flavus*, *A. niger* i *P. citrinum* su bile najučestalije. Istraživanje je potvrdilo ranije pretpostavke da se vrsta *A. flavus* najčešće pojavljuje kao onečišćenje kod različitog ljekovitog bilja i začina. Većina identificiranih gljiva imalo je sposobnost sinteze mikotoksina. Od 223 izolata iz rodova *Aspergillus* i *Penicillium*, njih 21,97% je proizvodilo mikotoksine, od čega je njih 42,9% proizvodilo aflatoksine, 22,4% okratoksine i 34,7% citrinine.

Navedena istraživanja ukazuju na visoku učestalost pojave gljiva iz rodova *Aspergillus* i *Penicillium* koje u mnogim slučajevima imaju sposobnost sinteze mikotoksina. Mikotoksini koje sintetiziraju ove dvije vrste su najčešće i najštetniji za ljudsko zdravlje. Kao glavni razlog onečišćenja ljekovitog biljnog materijala i njihovih pripravaka navodi se uglavnom neprikladno skladištenje gdje postoje povoljni uvjeti za sintezu mikotoksina. Dakako, prisustvo mikotoksina ne predstavlja opasnost ako se povremeno konzumira namirnica ili pripravak kontaminiran ovim sekundarnim metabolitom gljiva. Potencijalna opasnost postoji za ljude koji učestalo koriste ljekovito bilje i njihove pripravke, što je najčešće u zemljama kao što su Indija i Kina gdje se u znatno većoj mjeri prakticira narodna medicina.

### 3.2.2. Pesticidi

Pesticidi su skupina kemijskih i mikrobioloških sredstava koja se koriste za suzbijanje uzročnika biljnih bolesti, korova, štetnih kukaca, grinja i drugih štetnika, te za reguliranje rasta i razvoja biljaka (Venugopal, 2006). Masovno i globalno korištenje pesticida započelo je 1943. godine kada je započela komercijalna proizvodnja DDT-a (diklor-difenil-trikloretan), insekticida širokog spektra djelovanja (Šarkanj, 2010). Danas se u intenzivnoj poljoprivrednoj proizvodnji gotovo uvijek primjenjuje određena vrsta pesticida. Njihova upotreba dovela je do povećanja prinosa, ali i niza negativnih posljedica. Organska proizvodnja bez pesticida moguća je samo na manjim površinama zbog visoke cijene takve proizvodnje (Kumar Tewary i sur., 2004). Približno 85-90% primijenjenih pesticida ne dopijeva do ciljanog organizma već se rasprši putem zraka, tla i vode, te tim putem dopijeva u prehrambeni lanac i kao sastavni dio ljudske prehrane. Određeni pesticidi se u tlu mogu zadržati čak i desetljećima, a oni koji se ne vežu u tlu ili ne dopiju do biljaka, dopiju do voda i jezera te završe u prehrambenom lancu vodenog svijeta (Mansour, 2008).

Prema kemijskom sastavu pesticidi se dijele na biološke, anorganske i organske. Organski pesticidi predstavljaju najveću skupinu pesticida, imaju izraženu fiziološku

aktivnost te se uglavnom sastoje od organoklornih, organofosfornih, karbamatnih i triazinskih spojeva. Organoklorni pesticidi, kao što je DDT, su široko korišteni kao insekticidi, ali je zbog njihove dugotrajnosti, koja može štetiti čovjeku njihovo korištenje ograničeno ili u nekim zemljama čak i zabranjeno. Organofosforni pesticidi također mogu biti visoko toksični i nepovoljno utjecati na čovjekovo zdravlje (Zuin i Vilegas, 2000). Uspostavljeni su određeni standardi prema kojima se kontrolira čistoća ljekovitog bilja, između ostaloga i prisutnost pesticida, kao što su Internacionalni standard za čistoću začina, sjemena i ljekovitog bilja (*American Seed Trade Association - The United States Department of Agriculture; ASTA-USDA*) i standardi Europskog udruženja za začine (*European Spice Association; ESA*). Problem predstavlja što pojedine zemlje imaju vlastite standarde kada se govori o čistoći začina, kao i ljekovitog bilja i njihovih proizvoda, te se tako otežava uvoz i izvoz navedenih proizvoda.

Istraživanja su pokazala da su rezidue pesticida učestalo prisutne u ljekovitom biljnom materijalu. Tako su Kumar Tewary i sur. (2004) istraživali količine pesticida kod 10 ljekovitih biljnih vrsta (*Viola serpens* Wall., *G. glabra* – sladić, *F. vulgare* - komorač, *Aloe barbadensis* Mill i dr.) koje se koriste u Indiji te količinu pesticida koja se iz svježe biljke izdvoji u pripremljene dekokte. Prijenos pesticida je ovisio o biljnoj vrsti kao i o topljivosti pesticida u vodi. Pesticidi s azolima utvrđeni su u najvećoj koncentraciji, a u najnižoj koncentraciji oni iz skupine piretroida.

Sarkhail i sur. (2012) utvrđivali su prisutnost organofosfornih pesticida (paration, malation, diazinon i pirimifos-metil) kod pet različitih biljnih vrsta (*Zataria multiflora* Boiss., *Matricaria chamomilla* L. - kamilica, *Borago officinalis* L. - borač, *Mentha spicata* L. – klasasta metvica i *Cuminum cyminum* L. - kumin) koje se koriste u Iranu te su prikupljene u nekoliko lokalnih trgovina. Od svake biljne vrste analizirano je 10 uzoraka. Granica detekcije pesticida iznosila je 0,5 ng/g, te sa ovom granicom detekcije paration i pirimifos-metil nisu pronađeni kod nijednog uzorka. Rezultati su pokazali da je svaka biljna vrsta sadržavala određenu koncentraciju barem jednog pesticida, osim borača (*Borago officinalis* L.) kod kojeg nije pronađen niti jedan pesticid. Razlog tome navodi se činjenica da je ova biljna vrsta prirodni repelent te nije bilo potrebe za korištenjem insekticida. Kod najviše uzoraka pronađen je malation, a kod nekih uzoraka pronađeni su malation i diazinon. Najviša prosječna količina malationa ( $24,2 \pm 9,68$  ng/g) pronađena je kod kamilice, dok je klasasta metvica imala najveću prosječnu količinu diazinona ( $98,2 \pm 14,53$  ng/g). Kod 15 uzoraka (30%) nisu pronađene rezidue pesticida, dok su kod 35 uzoraka (70%) pesticidi utvrđeni u manjim koncentracijama od maksimalne dopuštene razine prema WHO-u i EU.

Ahmed i sur. (2001) provodili su istraživanje na pet različitih ljekovitih biljnih vrsta (*Carum carvi* L. – kim, *Cuminum cyminum* L. – kumin, *Pimpinella anisum* L. – anis, *Cinnamomum cassia* (L.) J. Presl – kineski cimet, *Zingiber officinale* Roscoe – đumbir) prikupljenih s lokalnih tržnica u Egiptu, te su ispitivali prisutnost rezidua organofosfornih insekticida. Pronađene su rezidue malationa, dimetoata, klorpirifosa i profenofosa. Kod kumina, anisa i cimeta pronađen je barem jedan od navedenih insekticida, dok kod đumbira i kima nisu pronađene rezidue (razina manja od razine detekcije). U tablici 3.2.2.1. prikazane su količine pronađenih organofosfata kod istraživanog ljekovitog bilja.



Tablica 3.2.2.1. Rezidue organofosfata pronađenih kod ljekovitog bilja prikupljenog sa lokalnih tržnica u Egiptu (mg/kg)

Pesticidi	Kumin	Anis	Đumbir	Kim	Cimet
Malation	0,40	0,007	n.p.	n.p.	0,027
Dimetoat	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.	0,006
Klorpirifos	0,010	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
Profenofos	0,37	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
<b>n.p. = nije pronađeno</b>					

Izvor: Ahmed i sur. (2001)

Malation je utvrđen u najvećoj koncentraciji iz razloga što je on jedini insekticid koji se u Egiptu preporuča za korištenje na ljekovitom bilju. Prisutnost ostalih insekticida je posljedica toga što se neki uzgajivači ne pridržavaju uputa nadležnih tijela o korištenju i dozvolama za korištenje insekticida. Također, kod cimeta je pronađen i dimetoat čija se primjena ne preporuča za biljke koje se koriste u prehrani.

Abou-Arab i Abou Donia (2001) također su ispitivali prisutnost rezidua organofosfornih i organoklornih pesticida na začinima i ljekovitom bilju dostupnom na tržištu u Egiptu. Istraživanje su proveli na 303 uzorka dobivenih iz 20 različitih biljnih vrsta. Istraživanje je pokazalo da su organoklorni pesticidi još uvijek prisutni u tlu i biljkama, iako je većina njih već godinama zabranjena za korištenje. Razina kloropirifosa, parationa i diazinona je bila manja od razine detekcije kod svih ispitivanih uzoraka. Od organofosfornih pesticida, malation je pronađen u najvišim koncentracijama i kod najvećeg broja uzoraka. Isto tako, kod određenih uzoraka pronađene su rezidue derivata DDT-a, iako je u vrijeme provođenja istraživanja preporuka nadležnih tijela u Egiptu bila da se ne koristi.

U istraživanju autora Xue i sur. (2008) utvrđivana je prisutnost 18 organoklornih pesticida kod 30 različitih tradicionalnih kineskih lijekova. Od 280 ispitivanih uzoraka tradicionalnih lijekova, kod njih 75,8% pronađen je barem jedan organoklorni pesticid. Kod više od 50% uzoraka pronađene su po dvije vrste pesticida. Kod najviše uzoraka (40,9%) pronađen je heksaklorobenzen. Međutim, iako su kod većine uzoraka utvrđene rezidue pesticida, njihove su koncentracije kod većine biljnih vrsta bile ispod maksimalno dopuštene razine.

Iako korištenje pesticida kod uzgoja ljekovitog bilja sve više raste, oni još uvijek ne predstavljaju značajnu opasnost kod konzumacije. Razlozi tome su ti što njihova primjena u proizvodnji ljekovitog bilja i nije toliko učestala, kao što je to kod nekih drugih vrsta, a isto tako prilikom prerade biljni materijal prolazi kroz različite procese kao što je pranje, guljenje, kuhanje, smrzavanje i sušenje što može smanjiti razinu rezidua pesticida. Unatoč tome, potrebno je uvesti ograničenja za korištenje pesticida u ljekovitom bilju, kao i njihovim pripravcima, upravo zbog navedene činjenice da proizvodnja raste, čime raste i korištenje pesticida.

### 3.2.3. Toksični elementi

Ljekovito bilje, kao i ljekoviti pripravci mogu biti kontaminirani različitim toksičnim elementima i spojevima. U najvećoj mjeri, opasnost predstavljaju teški metali, koji do biljke dospijevaju putem tla, zraka i vode. Najčešće, tlo se zagađi onečišćenjem iz zraka koje je nastalo djelovanjem raznih industrijskih postrojenja. Osim navedenih, mogući izvori teških metala mogu biti kiša, atmosferska prašina kao i različita sredstva za zaštitu bilja. Pod pojmom teški metal podrazumijeva se bilo koji metal, odnosno kovina, koja ima relativno visoku gustoću, i veliku toksičnost već pri niskim koncentracijama. Teški metali su postojani i skloni akumuliranju u ekosustavu, te su zbog toga opasni za žive organizme. Unos teških metala može uzrokovati slabljenje imunološkog sustava, srčane disfunkcije, malformacije fetusa, poremećeno psihosocijalno i neurološko ponašanje, rak gastrointestinalnog trakta i slično (Dghaim i sur., 2015). Od teških metala, živa, olovo, arsen i kadmij su toksični i mutageni čak i u malim koncentracijama (Shaban i sur., 2016). Potencijalna kontaminacija ljekovitog bilja ovisi o različitim čimbenicima kao što je biljna vrsta, tehnologija proizvodnje i prerade, vrijeme žetve, razina i trajanje izloženosti onečišćenjima, topografija, geografsko porijeklo, skladištenje i drugo (Arpadjan i sur., 2008). Brojnim istraživanjima utvrđena je kontaminacija ljekovitog bilja i njihovih pripravaka toksičnim metalima, no razina je varirala ovisno o biljnoj vrsti te području rasta određene biljne vrste.

Arpadjan i sur. (2008) ispitivali su prisutnost arsena, kadmija i olova u ljekovitim biljnim vrstama koje se najčešće koriste u Bugarskoj. Istraživanje su proveli na sedam biljnih vrsta: *Achillea millefolium* L. – stolisnik, *Matricaria chamomilla* L. – kamilica, *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng. – medvjетка, *Mentha x piperita* L. – paprena metvica, *Hibiscus sabdariffa* L., *Origanum vulgare* L. – mravinac i *Thymus serpyllum* L. – majčina dušica. Problem predstavlja promoviranje navedenih biljnih vrsta kao onih prikupljenih iz nezagađenih područja ili planina te se zbog toga ne provodi standardni postupak kontrole kvalitete. Ispitivanje prisustva navedenih metala provedena je na suhim i usitnjenim biljnim dijelovima (listovima, stabljici i cvjetovima) te u pripremljenim vodenim ekstraktima. Uzorci suhog biljnog materijala prikupljeni su direktno od proizvođača čajeva. Prilikom ispitivanja suhих biljnih dijelova pronađena su sva tri metala kod svih ispitivanih biljnih vrsta; arsen u količinama do 0,22 mg/kg, kadmij do 0,25 mg/kg te olovo do 8,6 mg/kg. Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO, 1999) maksimalna dopuštena količina ovih metala u ljekovitom bilju iznosi za arsen 1 mg/kg, kadmij 0,3 mg/kg te olovo 10 mg/kg, što znači da metali nisu utvrđeni u većim koncentracijama od onih dozvoljenih. Kod vodenih ekstrakata arsen je pronađen kod svih ljekovitih biljaka, dok je olovo kod svih biljnih ekstrakata bio ispod razine detekcije osim kod vrste *H. sabdariffa*, za razliku od suhих uzoraka gdje je upravo koncentracija olova bila najviša. Vrlo mala ili nikakva prisutnost olova u ekstraktima posljedica je netopivosti olova u vodi te zbog toga ne prelazi u vodene ekstrakte. Prema dobivenim rezultatima izračunati je tjedni unos navedenih elemenata ako bi se svaki dan popila tri čaja. Unos navedenih elemenata je neznatan u odnosu na dopuštene maksimalne količine tjednog unosa prema standardima Organizacije za prehranu i poljoprivredu (*Food and Agriculture Organization of the United Nations* – FAO) i WHO.

Caldas i Machado (2004) ispitivali su prisutnost kadmija, žive i olova kod 130 uzoraka dobivenih iz najčešće korištenog ljekovitog bilja u Brazilu, i to *Ginkgo biloba* –

ginko, *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reissek, *Rhamnus purshiana* DC., *Solanum melongena* L. – patlidžan, *Aesculus hippocastanum* L. – divlji kesten, *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen, *Hydrocotyle asiatica* L., *Paullinia cupana* Kunth – guarana, *Cynara scolymus* L. – artičoka i *Chlorella pyrenoidosa* H. Chick. Uzorci suhih biljnih dijelova prikupljeni su kod lokalnih trgovaca. Uzorci artičoke, patlidžana i guarane nisu sadržavali kadmij, živu i olovo iznad razine detekcije. Vrsta *H. asiatica* imala je najveći postotak kontaminiranih uzoraka navedenim metalima iznad granice detekcije, odnosno svi uzorci sadržavali su živu, 88% uzoraka sadržavalo je olovo, a 76,4% kadmij. Kod istraživanih biljnih vrsta, kod najviše uzoraka pronađena je živa (38%), a najmanje kadmija (13%). Izračunat je tjedni unos ovih elemenata te se iz dobivenih rezultata može zaključiti da je unos žive i kadmija u granicama maksimalne dopuštene količine unosa i ne predstavljaju opasnost za ljudsko zdravlje, dok je unos olova daleko iznad dopuštene količine unosa i može predstavljati opasnost ako se dugotrajno konzumiraju kontaminirane biljke.

Gjorgieva i sur. (2010) utvrđivali su prisutnost barija, kroma, kadmija, željeza, stroncija, olova i cinka kod tri ljekovite biljne vrste (*Urtica dioica* L. – kopriva, *Taraxacum officinale* (L.) Weber ex F. H. Wigg. – maslačak, *Matricaria chamomilla* L. – kamilica), koje samoniklo rastu u zagađenim i nezagađenim područjima u Makedoniji. Uzorci svježeg biljnog materijala prikupljeni su u rasponu od 10 do 100 m n. v. oko rudnika i talionice olova i cinka „Zletovo“ u gradu Velesu (zagađeno područje) te s područja planine Plačkovica, koja je udaljena oko 60 km od grada Velesa (nezagađeno područje). Za analizu, svi uzorci su osušeni, usitnjeni i zapakirani u čiste papirnate vrećice. U svim uzorcima ljekovitih biljaka prikupljenih u zagađenom području pronađene su visoke koncentracije kadmija i olova, a kod maslačka i koprive utvrđene su toksične koncentracije. U nezagađenom području razine olova i kadmija bile su ispod razine detekcije za maslačak, kod koprive pronađeno je olovo, a kod kamilice olovo i željezo, ali kod obje vrste ovi su elementi bili prisutni u vrlo malim koncentracijama. U zagađenom području koncentracije svih metala su bile znatno veće u odnosu na nezagađeno područje, te su količine toksičnih metala u zagađenom području bile iznad maksimalne dopuštene granice za ljekovito bilje.

U istraživanju koje su proveli Dghaim i sur. (2015) utvrđivane su koncentracije kadmija, olova, bakra, željeza i cinka kod sedam biljnih vrsta (*Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss – peršin, *Ocimum basilicum* L. – bosiljak, *Salvia officinalis* – ljekovita kadulja, *Origanum vulgare* – mravinac, *Mentha spicata* L. – klasasta metvica, *Thymus vulgaris* L. – timijan, *Matricaria chamomilla* - kamilica). Metali kao što su cink, bakar, željezo, mangan i krom esencijalni su nutrijenti, odnosno važni su za fiziološke i biološke funkcije u ljudskom tijelu. Unatoč tome, unos ovih metala iznad dopuštenih koncentracija može rezultirati toksičkim učinkom. Autori su ispitivanje proveli na 81 uzorku ljekovitog biljnog materijala (svježeg i suhog) koje je uzgajano na lokalnim poljoprivrednim površinama, kao i na uvoznom biljnom materijalu koje se prodaje u lokalnim trgovinama u Dubaiju. Razina kadmija kretala se od 0,1 do 1,11 mg/kg, te je najviša koncentracija utvrđena kod bosiljka (1,11 mg/kg). Kod 29% uzoraka razina kadmija bila je viša od maksimalno dopuštene prema standardima Svjetske zdravstvene organizacije (WHO, 2007). Kod klasaste metvice i peršina razina kadmija je bila ispod dopuštene granice. Prema standardima WHO maksimalna dopuštena količina olova u ljekovitom bilju iznosi 10 mg/kg. Kod paprene metvice razine olova su bile ispod granice, no njegova razina kod ostalih biljnih vrsta prelazila je

maksimalno dopuštenih 10 mg/kg, te je kod timijana razina olova iznosila čak 23,52 mg/kg. Prisustvo olova predstavlja problem s obzirom da izloženost olovu može imati nepovoljan utjecaj na kardiovaskularni, živčani, imunološki, koštani, mišićni i reproduktivni sustav te uzrokovati mnoge bolesti i oštećenja navedenih sustava. Unutar smjernica koje su izdane od strane FAO/WHO nisu navedene maksimalne dozvoljene količine za bakar u ljekovitom bilju. Razine bakra kretale su se od 1,44 do 156,24 mg/kg, te je u najvećoj koncentraciji pronađen kod kadulje. Povećani unos bakra može uzrokovati dermatitis, iritaciju gornjih dijelova dišnog sustava, bol u abdomenu, mučninu, proljev, povraćanje i oštećenje jetre. Cink je pronađen kod svih istraživanih biljnih vrsta, a njegova koncentracija bila je najviša kod timijana (146,67 mg/kg). Unatoč tome, rezultati su pokazali da je samo 19% uzoraka prelazilo maksimalnu dozvoljenu granicu od 50 mg/kg cinka. Koncentracije željeza varirale su od 81,25 do 1101,22 mg/kg, gdje je najveću koncentraciju imao bosiljak. Unutar smjernica koje je izdala WHO također se ne navodi ni maksimalna granica za željezo u ljekovitom bilju. Željezo ima ulogu kod nekoliko važnih funkcija u ljudskom tijelu, no predoziranje željezom je povezano sa simptomima vrtoglavice, mučnine i povraćanja, proljeva, bolova u zglobovima, šoka i oštećenja jetre. Na temelju navedenih rezultata, autori zaključuju da su teški metali prisutni u ljekovitom bilju u različitim koncentracijama, te da je kod većine ispitivanih vrsta prekoračena maksimalna dozvoljena granica za pojedine elemente. Varijacije u koncentracijama teških metala posljedica su različite mogućnosti usvajanja i translokacije metala u biljci. Usvajanje metala ovisit će o biljnoj vrsti i njihovom stadiju rasta, tipu tla i vrsti metala. Visoke koncentracije metala u ljekovitom bilju mogu predstavljati potencijalnu opasnost za ljudsko zdravlje tijekom dugotrajnog korištenja.

Krejpcio i sur. (2007) istraživali su prisustvo olova, kadmija, cinka i bakra u najčešće korištenom začinskom i ljekovitom bilju u kulinarstvu u Poljskoj. Ispitivanja su provedena na 13 biljnih vrsta (*Ocimum basilicum* – bosiljak, *Satureja hortensis* L. – čubar, *Cinnamomum zeylanicum* Blume – cimet, *Zingiber officinale* – đumbir, *Piper nigrum* – papar i dr.), a uzorci su prikupljeni iz lokalnih prodavaonica. Analiziran je suhi biljni materijal. Dobiveni rezultati uspoređeni su s maksimalno dozvoljenim granicama sadržaja navedenih metala u hrani koje je odredilo tamošnje Nacionalno Ministarstvo zdravstva. Navedeni maksimumi za olovo iznose 1,0 mg/kg, kadmij 0,1 mg/kg, bakar 20 mg/kg i cink 50 mg/kg. Prosječna količina olova kod ispitivanih uzoraka kretala se od 0,25 do 1,49 mg/kg, a najveće koncentracije pronađene su kod cimeta, gdje je njegova razina bila iznad dopuštene maksimalne granice. Znatne količine pronađene su i kod bosiljka, čubra i češnjaka. Kadmij je samo u znatnim količinama pronađen kod cimeta, čubra i bosiljka. Bakar je kod svih biljnih vrsta pronađen u tragovima. Cink je pronađen kod svih biljnih vrsta, ali količine su bile ispod dopuštenih maksimalnih granica. Za kulinarstvo u Poljskoj najveću opasnost predstavljaju olovo i kadmij koji su pronađeni u količinama većim od maksimalne dopuštene te je potrebno provoditi dodatne kontrole začinskog i ljekovitog bilja.

U istraživanju koje su proveli Barthwal i sur. (2008) ljekovito bilje je prikupljeno s tri ekološki različita područja unutar istog grada u Indiji te je utvrđivan sadržaj olova, kadmija, kroma i nikla. Područja s kojih su prikupljeni uzorci pripadaju stambenoj zoni, industrijskoj zoni te zoni velikog intenziteta prometa. Osim ljekovitog bilja, sa istih područja prikupljeni su i uzorci tla. Svi uzorci bili su osušeni, usitnjeni i izvagani radi analize. U tablici 3.2.3.1.

prikazane su ljekovite biljke i biljni dijelovi koji su analizirani kao i njihova ljekovita svojstva.

Tablica 3.2.3.1. Biljne vrste, biljni dijelovi i ljekovita svojstva biljnih vrsta ispitivanih u istraživanju

Biljna vrsta	Dio biljke	Ljekovita svojstva
<i>Abutilon indicum</i> (L.) Sweet	sjeme	Laksativ, afrodizijak, ekspektorans, kod kroničnog cistitisa, gonoreja
<i>Calotropis procera</i> (Aiton) Dryand.	korijen	Pomaže kod liječenja kroničnih slučajeva dispepsije, kod flatulencije, zatvora, gubitka apetita, loše probave i sluzi u stolici
<i>Euphorbia hirta</i> L.	cijela biljka	Pomaže kod bolova poslije poroda, bolova u dojčkama, erupcija na koži, antiprotozoik, antivirusno djelovanje
<i>Peristrophe bicalyculata</i> (Retz.) Nees.	cijela biljka	Protuotrov kod zmijskog ugriza
<i>Tinospora cordifolia</i> (Willd.) Miers.	stabljika	Stomahik, antipiretik, afrodizijak

Izvor: Barthwal i sur. (2008)

Nakon provedenog istraživanja utvrđeno je da su uzorci četiri biljne vrste imali veći sadržaj olova od uzoraka tla u zoni velikog intenziteta prometa. Svi analizirani uzorci ljekovitog bilja imali su nisku koncentraciju olova i kadmija, odnosno sadržaj ovih metala je bio niži od maksimalne dopuštene granice prema WHO-u. Kadmij je u najvećim koncentracijama pronađen kod vrste *Peristrophe bicalyculata* (Retz) Nees koja je prikupljena u zoni velikog intenziteta prometa i industrijskoj zoni, ali unutar granica maksimalne dopuštene koncentracije. Najveće koncentracije olova pronađene su kod vrsta *Calotropis procera* i *Euphorbia hirta* u zoni velikog intenziteta prometa. U ovoj zoni kod uzoraka tla su pronađene jako male količine olova.

Brojna druga istraživanja dokazala su prisustvo jednog ili više teških metala u ljekovitom biljnom materijalu i njihovim pripravcima. Isto tako, koncentracija teških metala ovisila je i o analiziranom biljnom dijelu.. Tako su primjerice Chizzola i sur. (2003) prikupljali podatke iz znanstvenih radova o prisustvu toksičnih metala u ljekovitom bilju koje se konzumira i proizvodi u Europi i području Mediterana. Kod većine biljnih vrsta količine kadmija i olova bile su ispod maksimalne dopuštene granice ili na samoj granici. Uz navedene metale, u ljekovitom bilju pronađeni su još arsen i živa. Osim toga, istraživanja su dokazala da se kontaminiranost teškim metalima usko veže sa područjem rasta ili uzgoja ljekovitog bilja.

Kostić i sur. (2011) prikupljali su ljekovito bilje koje se koristi u tradicionalnoj medicini u Srbiji s područja u blizini grada Niša, koji je treći najveći grad u Srbiji, ali jako slabo razvijene industrije. Ni u jednoj biljnoj vrsti nije pronađen nikal, olovo i kadmij, što potvrđuje podatke iz ostalih istraživanja da su ljekovite biljne vrste manje kontaminirane teškim metalima ako rastu ili se uzgajaju izvan područja razvijene industrije, ali i prometa.

Istraživanja su dokazala da je potrebno provoditi analize i kontrolu biljnog materijala koji se koristi u liječenju i prehrani, posebice u državama gdje se primjenjuje tradicionalna medicina te je konzumiranje ljekovitog bilja i pripravaka učestalo, što može dovesti do otrovanja teškim metalima.

## 4. Strategije poboljšanja kvalitete ljekovitog biljnog materijala

S porastom upotrebe ljekovitog biljnog materijala i konzumacije ljekovitih biljnih pripravaka, kvaliteti ljekovitog bilja se posvećuje sve veća pažnja. Onečišćenja i rezidue u biljni materijal mogu dospjeti na polju, ali i tijekom transporta, prerade i skladištenja biljnog materijala. Cilj je postići da do kontaminacije dođe u što manjoj mogućoj mjeri ili da se u potpunosti izbjegne. U postizanju ovog cilja veliku ulogu ima dobra poljoprivredna praksa. FAO je izdao knjižicu za poljoprivrednike i sakupljače prema smjernicama Svjetske zdravstvene organizacije u kojoj se opisuje pravilan način uzgoja, proizvodnje, transporta, prerade, sušenja i skladištenja kako bi se izbjegla kontaminacija ljekovitog biljnog materijala (FAO, 2010). Prilikom rukovanja s biljnim materijalom ili prilikom obrade i prerade potrebno je voditi brigu o higijeni i čistoći. Sve s čim biljni materijal dolazi u kontakt mora biti u potpunosti čisto kako ne bi došlo do kontaminacije bakterijama i gljivama. Isto tako vrlo važna je i točna identifikacija biljaka jer konzumiranje krivo identificiranih biljaka koje možda sadržavaju otrovne tvari može imati velike posljedice na ljudsko zdravlje. Kao primjer se može navesti mrazovac i medvjedi luk (slike 4.1 i 4.2.). Naime, navedene biljne vrste imaju vrlo slične listove te posljedice mogu biti kobne ako dođe do njihove zamjene. Medvjedi luk je samoniklo povrće iz porodice lukova te ga mnogi beru u šumama i pripremaju u raznim jelima. S druge strane, mrazovac je vrlo otrovna biljka zbog prisustva alkaloida kolhicina koji je otrovan za gotovo sve čovjekove organe i sustave. S obzirom da se listovi i jedne i druge biljke pojavljuju otprilike u isto vrijeme (krajem veljače, odnosno početkom ožujka) te ih se također može pronaći na istom staništu, vrlo je bitna pravilna identifikacija biljnih vrsta kako njihovo konzumiranje ne bi imalo negativne posljedice na ljudsko zdravlje.



Slika 4.1. Mrazovac  
Izvor: [www.biovrt.com](http://www.biovrt.com)



Slika 4.2. Medvjedi luk  
Izvor: [www.biovrt.com](http://www.biovrt.com)

Dobra poljoprivredna praksa ista je kao i kod ostalih kultura, jedina razlika je ta što se ljekovito bilje koristi zbog svojih ljekovitih svojstava te je glavni cilj i sačuvati ta svojstva. Kao i za sve ostale kulture potrebno je prije svega paziti na kvalitetu tla i moguće izvore različitih bioloških, ali i kemijskih onečišćenja kao što su rezidue pesticida ili industrijski otpad u tlu ili vodi koja se koristi za navodnjavanje. Najbolje bi bilo najprije napraviti analizu uzorka tla kojim će se utvrditi postoje li onečišćenja, ali isto tako i ustanoviti kojih nutrijenata nedostaje u tlu kako bi se gnojidbom njihov nedostatak mogao nadoknaditi. Voda koja se koristi za navodnjavanje također bi trebala biti poslana na analizu radi utvrđivanja mogućih onečišćenja. Što se tiče korova, štetočinja i bolesti, uvijek se korištenje kemijskih sredstava preporučuje kao zadnja opcija. Ako se ljekovito bilje uzgaja u organskoj proizvodnji tada je korištenje kemijskih sredstava zabranjeno. Kod korova se preporuča korištenje malča čime se zadržava vlaga u tlu, ali i sprječava rast korova. Za izbjegavanje štetočinja i bolesti preporučuje se uzgajati otporne vrste, prilagođavanje vrijeme sjetve ili sadnje, uzgoj s drugom kulturom, korištenje organskih pesticida i sl., te ako ovim tehnikama nije bilo uspjeha, tada se predlaže korištenje kemijskih sredstava pod uvjetom da se velika pažnja mora pridavati doziranju. Prilikom žetve potrebno je paziti da je sve oruđe čisto, kao i prikolice ili spremnici u kojima će se ljekovito bilje prevoziti te se preporuča da se žetva obavlja po suhom vremenu. Posliježetveni proces predstavlja najkritičnije razdoblje za određivanje kvalitete ljekovitog biljnog materijala. Tijekom ovog procesa biljni materijal dolazi u kontakt s mnogo ljudi, različitim površinama, transportira se zagađenim cestama ili se skladišti u neprimjerenim skladišnim prostorima te postoji velika opasnost od kontaminacije. Transport biljnog materijala do jedinice za obradu trebalo bi obaviti što je brže moguće, različite biljne dijelove držati odvojene te zaštititi ljekoviti biljni materijal od vrućine i kiše. Jedinice za obradu moraju biti očišćene i zaštićene od direktnog sunca. U procesu sušenja, pozornost se mora obratiti na zaštitu od kukaca, prašine i sličnih izvora onečišćenja, potrebno je paziti na temperaturu i prozračnost. Visoka temperatura može nepovoljno utjecati na sadržaj ljekovitih svojstava (FAO, 2010). Ako nije moguće odmah obraditi biljni materijal njega je potrebno skladištiti na temperaturama od 2 do 8 °C, a zaleđeni proizvodi skladište se na temperaturi od -20 °C. Skladišni prostor mora se nalaziti u područjima u kojima nema nepoželjnih mirisa, dima, prašine i drugih onečišćenja, te da ne podliježu poplavama. Podovi, zidovi i strop moraju biti u skladištu čisti, napravljeni od materijala koji se mogu prati i koji će štiti od prašine, topline i vlage. Nakon obrade biljni materijal treba zapakirati što prije kako bi se izbjeglo pogoršanje kvalitete i kako bi se zaštitio od nepotrebnog izlaganja kukcima i drugim izvorima kontaminacije. Sav biljni materijal mora biti pakiran u čistim posudama ili vrećama te jasno i vidljivo označen (WHO, 2003). Cilj programa dobre poljoprivredne prakse je prije svega spriječiti onečišćenja ljekovitog biljnog materijala te time omogućiti proizvodnju ljekovitih biljnih pripravaka visoke kvalitete.



## 5. Zaključak

Prema istraženom literaturi vidljivo je da postoji problem onečišćenja ljekovitog biljnog materijala kao i njihovih pripravaka i nedostatak zakonske regulative koja će kontrolirati kvalitetu ovih proizvoda. Najveću opasnost predstavljaju kemijska onečišćenja kao što su mikotoksini te teški metali, čiji unos u ljudski organizam putem ljekovitih pripravaka može imati velikih posljedica na čovjekovo zdravlje. Iako u nekim istraživanjima prisutnost onečišćenja nije bila alarmantna ili iznad dozvoljenih granica, učestalim konzumiranjem razna onečišćenja mogu se gomilati u ljudskom organizmu i imati suprotno djelovanje, odnosno umjesto da spriječe bolesti, ljekoviti pripravci ih izazivaju. Najveći utjecaj ova onečišćenja imaju u državama u kojima se puno prakticira tradicionalna medicina kao što su Kina i Indija te u nerazvijenim državama i državama u razvoju gdje se stanovništvo zbog visoke cijene sintetskih lijekova upravo okreće onim prirodnima. Problem također predstavlja nedostatak kontrole kvalitete ljekovitog bilja koje se uzgaja i proizvodi, ali i ono koje se uvozi. Prema dostupnoj literaturi, veliki postotak država svijeta nema nikakvu zakonsku regulativu koja će kontrolirati proizvode od ljekovitog bilja unatoč sve većem korištenju ovih proizvoda. Organizacije kao što su WHO i FAO nastoje pružiti proizvođačima, ali i vlastima smjernice kako pravilno postupati sa ljekovitim biljnim materijalom. Smjernice obuhvaćaju sve procese od sjetve do skladištenja kako bi se kontaminacija što više smanjila i kako bi se dobili kvalitetni proizvodi. Navedene organizacije također nastoje usmjeriti vlasti prema zakonima kakve bi valjalo uvesti kako bi se pratila kvaliteta tih proizvoda, no unatoč tome, većina država tome ne pridaje još preveliku pažnju. S obzirom da potražnja za ljekovitim biljnim pripravcima kao i njihova konzumacija sve više raste, postaje neophodno uvoditi potrebnu zakonsku regulativu u državama koje je nemaju kojom će se nadzirati proizvodnja ljekovitog bilja i njihovih pripravaka. Također, u državama gdje zakonska regulativa postoji, potrebno je povećati kontrole čime će se omogućiti sigurnost korištenja i sprječavanje nastanka bolesti konzumiranjem proizvoda koji bi bolesti trebali spriječiti ili izliječiti.

## 6. Popis literature i izvora

1. Abou-Arab A. A. K., Abou Donia M. A. (2001) Pesticide residues in some Egyptian spices and medicinal plants as affected by processing. *Food Chemistry* 72: 439-445.
2. Ahmad B., Ashiq S., Hussain A., Bashir S., Hussain M. (2014) Evaluation of mycotoxins, mycobiota, and toxigenic fungi in selected medicinal plants of Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Fungal Biology* 118: 776-784.
3. Ahmed M. T., Loutfy N., Yousef Y. (2001) Contamination of Medicinal Herbs with Organophosphorus Insecticides. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 66 (4): 421-426.
4. Arpadjan S., Çelik G., Taşkesen S., Güçer Ş. (2008) Arsenic, cadmium and lead in medicinal herbs and their fractionation. *Food and Chemical Toxicology* 46: 2871-2875.
5. Aziz Nagy H., Youssef Youssef A., El-Fouly Moheie Z., Moussa Lotfy A. (1998) Contamination of some common medicinal plant samples and spices by fungi and their mycotoxins. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 39:279-285.
6. Barthwal J., Nair S., Kakkar P. (2008) Heavy Metal Accumulation in Medicinal Plants Collected from Environmentally Different Sites. *Biomedical and Environmental Sciences* 21: 319-324.
7. Bianco M. I., Lúquez C., de Jong L. I. T., Fernández R. A. (2008) Presence of *Clostridium botulinum* spores in *Matricaria chamomilla* (chamomile) and its relationship with infant botulism. *International Journal of Food Microbiology* 121: 357-360.
8. Bugno A., Buzzo Almodovar A. A., Caldas Pereira T., Pinto Terezinha de Jesus A., Sabino M. (2006) Occurrence of toxigenic fungi in herbal drugs. *Brazilian Journal of Microbiology* 37: 47-51.
9. Cagan E., Peker E., Dogan M., Caksen H. (2010) Infant Botulism. *Eurasian Journal of Medicine* 42(2): 92-94.
10. Caldas E. D., Machado L. L. (2004) Cadmium, mercury and lead in medicinal herbs in Brazil. *Food and Chemical Toxicology* 42: 599-603.
11. Chizzola R., Michitsch H., Franz C. (2003) Monitoring of metallic micronutrients and heavy metal in herbs, spices and medicinal plants from Austria. *European Food Research and Technology* 216 (5): 407-411.
12. Dghaim R., Al Khatib S., Rasool H., Ali Khan M. (2015) Determination of Heavy Metals Concentration in Traditional Herbs Commonly Consumed in the United Arab Emirates. *Journal of Environmental and Public Health* 4: 1-6.
13. European Medicines Agency (2015). Reflection paper on microbiological aspects of herbal medicinal products and traditional herbal medicinal products. EMA/HMPC/95714/2013.
14. FAO (2010) Good Agricultural and Collection Practices for Medicinal Plants. Food and Agriculture Organization of the United Nations. New Delhi, India.
15. Freitas Araújo M. G., Baubab T. M. (2012) Microbial Quality of Medicinal Plant Materials. *Latest Research into Quality Control*. Isin Akyar. IntechOpen [online] DOI: 10.5772/51072. Pristupljeno: 15. travnja 2019.

16. Gjorgieva D., Kadifkova-Panovska T., Bačeva K., Stafilov T. (2010) Content of toxic and essential metal in medicinal herbs growing in polluted and unpolluted areas of Macedonia. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju* 61: 297-303.
17. Halt M. (1998) Moulds and mycotoxins in herb tea and medicinal plants. *European Journal of Epidemiology* 14: 269-274.
18. Harris A. (2016) *Clostridium botulinum*. U: *Encyclopedia of Food and Health*. 141-145.
19. Heperkan Zeynep D. (2006) Detecting and controlling mycotoxin contamination of herbs and spices. *Handbook of herbs and spices*. 3: 3-40.
20. Hyun-Deok C., Joon Hyuk S., Shi F., Taeyong E., Junghyun K., Seung Muk H., Junhee K., Yu W., Sang Beom H. (2018) Comprehensive analysis of multi-class mycotoxins in twenty different species of functional and medicinal herbs using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Control* 96: 517-526.
21. Kosalec I., Cvek J., Tomić S. (2009). Contaminants of medicinal herbs and herbal products. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*, 60 (4), 485-500 [online] <https://doi.org/10.2478/10004-1254-60-2009-2005>. Pristupljeno: 16. ožujka 2019.
22. Kostić D., Mitić S., Zarubica A., Mitić M., Veličković J., Randjelović S. (2011) Content of trace metal in medicinal plants and their extracts. *Hemijska industrija* 65 (2): 165-170.
23. Krejpcio Z., Król E., Sinkowski S. (2007) Evaluation of Heavy Metals Contents in Spices and Herbs Available on the Polish Market. *Polish Journal of Environmental Studies* 16 (1): 97-100.
24. Kumar Tewary D., Kumar V., Shanker A. (2004) Leaching of pesticide in herbal decoction. *Chemical Health and Safety* 11 (4): 25-29.
25. Mansour S. A. (2008) Environmental Impact of Pesticides in Egypt. *Reviews of environmental contamination and toxicology* 196: 1-51.
26. Martins H. M., Martins M. L., Dias M. I., Bernardo F. (2001). Evaluation of microbiological quality of medicinal plants used in natural infusions. *International Journal of Food Microbiology* 68: 149-153.
27. Narodne novine (2010) Pravilnik o stavljanju u promet te o označavanju i oglašavanju tradicionalnih biljnih lijekova (NN 89/2010). [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2010\\_07\\_89\\_2533.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2010_07_89_2533.html). Pristupljeno: 21. kolovoza 2019.
28. Narodne novine (2013) Zakon o lijekovima (NN 76/2013). [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013\\_06\\_76\\_1522.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_06_76_1522.html). Pristupljeno: 21. kolovoza 2019.
29. Narodne novine (2016) Pravilnik o ekološkoj poljoprivrednoj proizvodnji (NN 19/2016). [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2016\\_03\\_19\\_571.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2016_03_19_571.html). Pristupljeno: 8. rujna 2019.
30. Narodne novine (2017) Pravilnik o sakupljanju zavičajnih divljih vrsta (NN 114/2017). [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2017\\_11\\_114\\_2663.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2017_11_114_2663.html). Pristupljeno: 8. rujna 2019.

31. Patel P., Patel N. M., Patel P. M. (2011) WHO guidelines on quality control of herbal medicines. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy* 2(4): 1148-1154.
32. Peter K. V., Nirmal Babu K. (2012). Introduction to herbs and spices: medicinal uses and sustainable production. U: *Handbook of Herbs and Spices – Volume 2*. Woodhead Publishing Limited, Abington Hall, Abington.
33. Pleadin J., Frece J., Markov K. (2017) Utjecaj postupaka prerade na transformaciju i smanjenje koncentracije mikotoksina u određenim skupinama hrane. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition* 12 (1-2): 4-13.
34. Rocha-Miranda F., Venâncio A. (2018) Mycotoxigenic fungi in plant-based supplements and medicines. *Current Opinion in Food Science* [online] <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.08.003>. Pristupljeno: 28. svibnja 2019.
35. Roy A. K., Sinha K. K., Chourasia H. K. (1998) Aflatoxin contamination of some common drug plants. *Applied and environmental microbiology* 54(3): 842-843.
36. Run-sheng Z., Wen-li W., Jing T., Hui X., Ruo-ting Z., Wei-wen C. (2017) An investigation of fungal contamination on the surface of medicinal herbs in China. *Chinese Medicine* 12:2.
37. Sarkhail P., Yunesian M., Ahmadkhaniha R., Sakheil P., Rastkari N. (2012) Levels of organophosphorus pesticide sin medicinal plants commonly consumed in Iran. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences* 20: 9.
38. Shaban N. S., Abdou K. A., Hassan N. El-Houda Y. (2016) Impact of toxic heavy metals and pesticide residues in herbal products. *BENI-SUEF University Journal of Basic Applied Sciences* 5: 102-106.
39. Siakrwar P., Mahajan S., Gupta A., Asthana M., Sharma R. (2014) Isolation and Identification of Fungal Contamination in Stored Medicinal Plants. *American Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics* 1 (2) 052-058.
40. Singh P., Srivastava B., Kumar Ashok, Dubey N. K. (2008) Fungal Contamination of Raw Materials of Some Herbal Drugs and Recommendation of Cinnamomum camphora Oil as Herbal Fungitoxicant. *Microbial Ecology* 56: 555-560.
41. Šarkanj B., Kipčić D., Vasić-Rački Đ., Delaš F., Galić K., Katalenić M., Dimitrov N., Klavec T. (2010) Kemijske i fizikalne opasnosti u hrani. Hrvatska agencija za hranu, Osijek.
42. Tripathy V., Basak B. B., Varghese T. S., Saha A. (2015). Residues and contaminants in medicinal herbs – A review. *Phytochemistry Letters*, 14: 67–78.
43. Uredba (EU) 2018/848 Europskog parlamenta i Vijeća od 30. svibnja 2018. o ekološkoj proizvodnji i označivanju ekoloških proizvoda te stavljanju izvan snage Uredbe Vijeća (EZ) br. 834/2007. SL L 150/1. 14.06.2018.
44. Uredba Komisije (EZ) br. 889/2008 od 5. Rujna 2008. O detaljnim pravilima za provedbu Uredbe Vijeća (EZ) br. 834/2007 o ekološkoj proizvodnji i označivanju ekoloških proizvoda s obzirom na ekološku proizvodnju, označivanje i kontrolu. SL L 250/1. 05.09.2008.
45. Venugopal K. J. (2006) Controlling pesticide and other residues in herbs and spices. *Handbook of Herbs and Spices*. Vol. 3: 41-59.

46. WHO (1999) Monographs on Selected Medicinal Plants, vol. 1. World Health Organization. Geneva.
47. WHO (2003) WHO guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants. World Health Organization. Geneva.
48. WHO (2005) National policy on traditional medicine and regulation of herbal medicines report of a WHO global survey. World Health Organization. Geneva.
49. WHO (2007) WHO guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues. World Health Organization. Geneva.
50. Xue J., Hao L., Peng F. (2008) Residues of 18 organochlorine pesticide sin 30 traditional Chinese medicines. *Chemosphere* 71: 1051-1055.
51. Zuin Vânia G., Vilegas Janete H. Y. (2000) Pesticides Residues in Medicinal Plants and Phytomedicines. *Phytotherapy Research* 14: 73-88.

#### Izvori:

1. Biovrt – u skladu s prirodom. [www.biovrt.com](http://www.biovrt.com). Pristupljeno: 4. rujna 2019.

## **Životopis**

Danijela Duh rođena je 8. lipnja 1993. godine u Zagrebu. Osnovnu školu pohađala je od 2000. do 2008. godine u Ivanić-Gradu, te je po završetku osnovne upisala Srednju školu Ivan Švear, smjer ekonomist. Srednju školu završila je 2012. godine. Preddiplomski studij smjera Biljne znanosti na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu upisala je 2014. godine te završila 2017. Iste godine upisala je diplomski studij smjera Biljne znanosti na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

U srednjoj školi bila je član skupine „Vršnjak pomagač“ gdje je volontirala za UNICEF-ov projekt „Škole za Afriku“. Bavila se streljaštvom 5 godina te mažoret plesom i twirlingom 10 godina, te je sudjelovala na brojnim regionalnim, državnim i europskim natjecanjima.